

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 実用新案出願公開

⑫ 公開実用新案公報 (U)

昭57-16697

⑤ Int. Cl.³
F 16 L 59/14
9/18

識別記号

庁内整理番号
6947-3H
6459-3H

⑬ 公開 昭和57年(1982)1月28日

審査請求 有

(全 1 頁)

⑭ 断熱銅管

① 実 願 昭55-81868

② 出 願 昭55(1980)6月12日

② 考 案 者 堀口正男

尼崎市道意町7丁目6番地古河
金属工業株式会社大阪伸銅所内

② 考 案 者 野尻昭夫

東京都品川区二葉2丁目9番15
号古河電気工業株式会社中央研
究所内

② 考 案 者 是枝利雄

東京都品川区二葉2丁目9番15
号古河電気工業株式会社中央研
究所内

② 考 案 者 渡辺徹

尼崎市道意町7丁目6番地古河
金属工業株式会社大阪伸銅所内

① 出 願 人 古河電気工業株式会社

東京都千代田区丸の内2丁目6
番1号

④ 代 理 人 弁理士 鈴江武彦 外1名

⑯ 実用新案登録請求の範囲

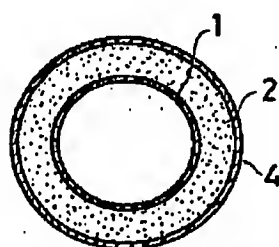
銅管の外周にプラスチック発泡体による断熱層
及びJIS硬度A法で55~58の熱可塑性エラスト
マーによる保護層を夫々設けたことを特徴とする
断熱銅管。

図面の簡単な説明

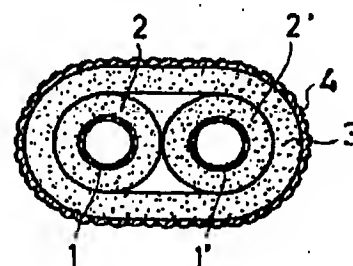
第1図及び第2図は従来の断熱銅管の1例を示
す断面図、第3図は本考案断熱銅管の1例を示す
断面図である。

1, 1'...銅管、2, 2'...第1断熱層、3...
第2断熱層、4...保護層。

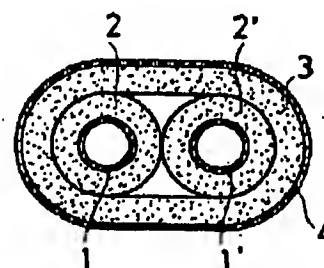
第1図



第2図



第3図



⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭57—16697

⑤ Int. Cl.³

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和57年(1982)1月28日

C 12 Q 1/28

7349—4B

1/62

7349—4B

G 01 N 33/52

6422—2G

33/66

6422—2G

33/92

6422—2G

発明の数 1

審査請求 未請求

(全 18 頁)

⑭ 水性液中の被検体検出用要素

アメリカ合衆国ニューヨーク・

フエアーポート・ブランドフォ

ード・レイン 2

⑯ 特 願 昭56—80712

⑰ 出 願 昭52(1977)8月9日

優先権主張 ⑱ 1976年8月9日 ⑲ 米国(US)

⑳ 712972

㉑ 特 願 昭52—94725の分割

㉒ 発 明 者 バルバラ・ユングフライシュ・

ブルシユイ

㉓ 出 願 人 イーストマン・コダック・カン

パニー

アメリカ合衆国ニューヨーク・

ロチェスター・ステイト・スト

リート343

㉔ 代 理 人 弁理士 青木朗 外 2 名

明 細 書

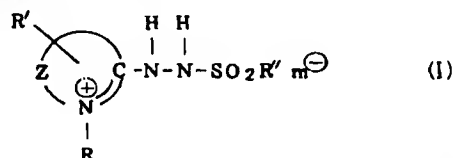
1. 発明の名称

水性液中の被検体検出用要素

2. 特許請求の範囲

1. 非繊維状の等方的に多孔性である拡散層及び試薬層から成り、そして(a)接触によって過酸化水素を生成せしめる酵素並びに(b)(i)過酸化作用を有する物質、(ii)緩衝液及び(iii)染料形成性物質から成る過酸化水素検出組成物を含む、水性液中の被検体検出用要素であって、前記染料形成性物質が

(A) (a) 式 I



で表わされるスルホニルヒドラゾン前駆体

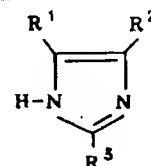
(前記式中 R はアルキル、R' は水素、アリール、アルコキシ、ハロゲン若しくはアルキル、R'' はアリール若しくはアルキル、Z は環員が 5 - 6 員の複素環を完成するに必要な原子団、そして m[⊖] は

アニオンを示す) と

(b) 発色剤

との混合物又は

(B) 式 II

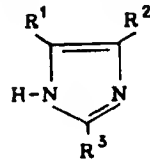


(式中 R¹、R² 及び R³ はそれぞれ有機の基であって R¹、R² 及び R³ の少くとも一つが炭素数 18 以下のオルト若しくはパラヒドロキシ置換アリール基を示し、その他の二つの R¹、R² 及び R³ はイミダゾールの酸化電位が -70 mV ないし 110 mV (炭素ベース電極を用いた標準カロメル電極に対しサイクリック電圧電流法により測定) となるように選ばれる) で表わされるトリアリールイミダゾールのいずれかであることを特徴とする被検体検出用要素。

2. 前記被検体が尿酸であり、そして前記酵素がウリカーゼである特許請求の範囲第 1 項記載の

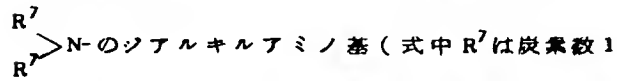
要素。

3. 前記染料形成性物質が式



(式中 R^1 , R^2 及び R^3 はそれぞれ炭素数 18 以下のアリール基であって、 R^1 , R^2 及び R^3 の少くとも一つがオルト又はパラヒドロキシ置換アリール基であり、そしてその他の R^1 , R^2 及び R^3 の少くとも一つがオルト又はパラ電子供与置換基である) で表わされるトリアリールイミダゾールを含む特許請求の範囲第 2 項記載の要素。

4. 前記オルト又はパラ電子供与置換基がアリールオキシ基式 $-OR^7$ のアルコキシ基又は式



ないし約 8 のアルキル基) である特許請求の範囲第 3 項記載の要素。

5. 前記染料形成性物質が式

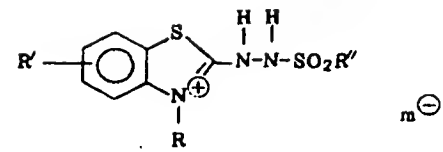
ジニトロフェノールの群から選ばれたものである特許請求の範囲第 2 項記載の要素。

8. 前記過酸化作用を有する物質がパーオキシダーゼである特許請求の範囲第 2 項記載の要素。

9. 約 8 と約 9 の間の pH に緩衝された特許請求の範囲第 2 項記載の要素。

10. 前記緩衝液が硼酸塩、クエン酸塩、リン酸塩、グルタル酸塩、炭酸塩及びトリス緩衝液の群から選ばれたものである特許請求の範囲第 2 項記載の要素。

11. 前記染料形成性物質が 3-メチル-6-ニトロ-2-(2-p-トルエンスルホニルヒドラジノ)ベンゾチアゾリウム p-トルエンスルホネート、3-メチル-2-(2-p-トルエンスルホニルヒドラジノ)-ベンゾチアゾリウム p-トルエンスルホネート、1-メチル-2-(2-p-トルエンスルホニルヒドラジノ)キノリニウム p-トルエンスルホネート及び 1-メチル-2-(2-p-トルエンスルホニルヒドラジノ)ピリジニウム p-トルエンスルホネートの群から選ば



(式中 R はアルキル; R' は水素、アリール、アルコキシ、ハロゲン又はアルキル; R'' はアリール又はアルキル; m^{\ominus} はアニオンを示す) で表わされるヒドラゾン前駆体を含む特許請求の範囲第 2 項記載の要素。

6. 前記発色剤がフェノールアミン、ナフトールアミン、芳香族アミノ及び反応性メチレン発色剤の群から選ばれたものである特許請求の範囲第 2 項記載の要素。

7. 前記発色剤が、1-ナフトール、2-ナフトール、5-ジメチルアミノ-1-ナフタレンスルホン酸、2,6-ジメチルフェノール、フェノール、ジフェニルアミン、4-クロロ-2-ニトロフェノール、p-ヒドロキシフェニル酢酸、4-クロロ-3-メチルフェノール、2,4-ジクロロ-1-ナフトール及び 4-クロロ-2,6-

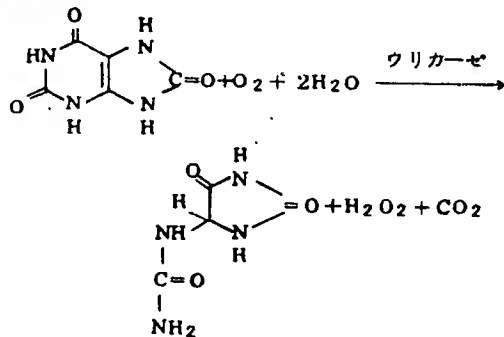
れたものであるスルホニルヒドラゾン前駆体を含む特許請求の範囲第 2 項記載の要素。

12. 前記染料形成性物質が 2-(4-ヒドロキシ-3,5-ジメトキシフェニル)-4,5-ビス(4-メトキシフェニル)-イミダゾール、2-(3,5-ジプロモ-4-ヒドロキシフェニル)-4,5-ジフェニルイミダゾール、2-(3-プロモ-5-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-4,5-ビス(4-メトキシフェニル)-イミダゾール、4,5-ビス(4-ジメチルアミノフェニル)-2-(4-ヒドロキシフェニル)-イミダゾール、4,5-ビス(4-ジメチルアミノフェニル)-2-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)イミダゾール、2-(4-ヒドロキシフェニル)-4,5-ビス(4-メトキシフェニル)イミダゾール及び 4,5-ビス(4-ジメチルアミノフェニル)-2-(4-ヒドロキシ-3,5-ジメトキシフェニル)イミダゾールの群から選ばれたものであるトリアリールイミダゾールを含む特許請求の範囲第 3 項記載の要素。

3. 発明の詳細な説明

本発明は水性液中の被検体検出用要素に関する。

過酸化水素及び反応して過酸化水素を生成する物質の検出及び定量は種々の分野で重要である。たとえばグリコースオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ウリカーゼ等のような酵素による、酸素の存在下でのグリコース、コレステロール、尿酸等のような物質の酵素分析の際生成する過酸化水素の検出のような場合に重要である。生成しそして検出した過酸化水素の量から試料中に存在する酵素基物の量が決定される。たとえば尿酸の場合の反応は次の通りである。



- (1) アニリン及びその誘導体、オルト-トルイジン、パラ-トルイジン等のようなモノアミン。
- (2) オルト-フェニレンジアミン、N, N'-ジメチル-パラ-フェニレンジアミン、N, N'-ジエチルフェニレンジアミン、ベンジジン、ジアニジン等のようなジアミン
- (3) フェノールそれ自体並びにチモール、オルト-、メタ-及びパラ-クレゾール、 α -ナフトール、 β -ナフトール等のようなフェノール。
- (4) カテコール、グアヤコール、オキシノール、ピロガロール、p, p'-ジヒドロキシジフェニル及びフロログルシノールのようなポリフェノール
- (5) サリチル酸、ピロカテコール酸及び没食子酸のような芳香族酸
- (6) ロイコマラカイトグリーン及びロイコフェノールフタレインのようなロイコ染料(アルカリ性媒質中で用いるのが望ましい)
- (7) 2, 6-ジクロロフェノール、インドフェノールのような着色染料

特開昭57- 16697(3)

このような機構で生成する過酸化水素の検出及び/又は定量用の公知組成物は一般に、過酸化作用のある物質(パーオキシダーゼ及びパーオキシダーゼと同様な物質)及び過酸化水素と過酸化作用のある物質との存在下で検出可能な変化(一般に色変化)をおこす物質から成る。そのような組成物に関する先行技術の完全なリストをここで示すには余りにも数が多すぎるがそのような物質に関する代表的な特許には、米国特許

第2912309号、同第2981606号、同第3349006号、同第3092465号、同第3558435号、同第3595755号、同第3627697号、同第3627698号、同第3630847号、同第3654179号、同第3654180号及び同第3853470号がある。パーオキシダーゼ及びパーオキシダーゼと同様な物質と共に用いる過酸化水素を測定する為の先行技術で提唱されている種々な染料形成性物質には、次の物質がある(必要な場合には発色剤を一緒に用いる)。

- (8) エピネフリン、フラボン、チロシン、ジヒドロキシフェニルアラニン及びトリプトファンのような種々な生物学的物質
- (9) グアイヤクゴム、グアイヤコン酸、炭化カリウム、炭化ナトリウム及びその他の水溶性炭化物、ビリルビン並びに
- (10) 2, 2'-アジン-ジ(3-エチルベンゾチアゾリン-6)-スルホン酸及び3, 3'-ジアミノベンジジンのような特別な染料

当然のことながら過酸化水素、過酸化作用を有する物質及び染料形成性物質の組み合わせにより検出可能な色変化が生じることが理解されよう。かくして過酸化作用を有する物質の分析が望まれる場合、過酸化水素及び染料形成性物質から成る組成物を用いる。

前記物質は一般に過酸化水素(又は過酸化作用を有する物質)の検出用の染料形成性物質として有用であるが、過酸化水素源、希釈の必要性又は総合的な検出方法のいずれかの理由により分析すべき過酸化水素(又は過酸化作用を有する物質)

の濃度が低すぎて十分に検出可能な色が生成しない場合がある。血清中に存在する低レベルの尿酸(1~15mg/dl)から生成する過酸化水素検出の際に前記のような濃度に関する問題が生じる。先行技術実施の環境が組成物のこの欠点を補うことが可能な場合、この欠点は通常比較的大容積の検出可能な生成物を測定することにより克服される。即ちこの欠点は尿酸の溶液分析の際、生成色素の有効濃度を付加的に増大させる為にセルの直径を増大させることにより克服される。

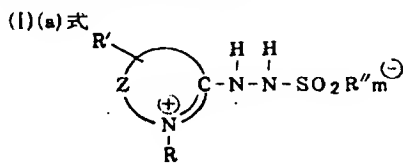
しかしながら生成染料の有効濃度を増大させる為にそのような修正を行うことはすべての分析技術においては不可能である。他の適用においても過酸化水素定量系を用いた分析の被検体(アナライト)濃度が非常に低いか又は適切に溶解させる為にながら希釈することにより生成染料の量が非常に少くよってそのような方法は実際的でない。

Przybylowicz 及び Millikan の名で 1974 年 1 月 2 日のベルギー国特許第 801742 号及びそれに対応する 1976 年 1 月 16 日の米国特許

第 3992158 号に記載の型の多層要素で被検体測定を行う場合に前記のようなことは特に問題になるしまた尿酸のような低濃度の被検体をそのような要素で分析する時非常に問題となる。これらの場合そのような要素に望ましい比較的長い指示薬層又は試薬層(0.25mm未満のオーダー)を用いても形成される染料の濃度は比較的低いこともある。増大した有効濃度を得る為に染料提供物質を含む層の厚さを増大させることは、反応時間が増大し層製造の際のトラブルが生じる等の理由により望ましくない。従って、この型の要素を尿酸のような低濃度の血清成分の分析に確実に用いたい場合に、形成染料の有効濃度を増大させるその他の技法を見い出さねばならなかった。ここに記載の分析要素は、多層要素以外の媒質中において物質及び被検体、特に尿酸以外の血清成分の分析に等しく有用でありそして被検体溶液の大々希釈がある理由により必要な場合に過酸化水素の検出を必要とする分析に特に有用である。

以下余白

本発明の被検体検出用要素は、非線維状の等方的に多孔性である拡散層及び試薬層から成り、そして(a)接触によって過酸化水素を生成せしめる酵素並びに(b)(i)過酸化作用を有する物質(ii)緩衝液及び(iii)染料形成性物質から成る過酸化水素検出組成物を含む、水性液中の被検体検出用要素であって、前記染料形成性物質が

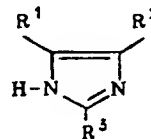


で表わされるスルホニルヒドラゾン前駆体(前記式中 R はアルキル、R' は水素、アリール、アルコキシ、ハロゲン若しくはアルキル、R'' はアリール若しくはアルキル、Z は環員が 5 - 6 員の複素環を完成するのに必要な原子団、そして m⁻ はアニオンを示す)と

(b)発色剤

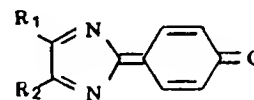
との混合物又は

(II) 式



(式中 R¹、R²及び R³はそれぞれ有機の基であって R¹、R²及び R³の少くとも一つが炭素数 18 以下のオルト若しくはパラヒドロキシ置換アリール基を示しその他の二つの R¹、R²及び R³はイミダゾールの酸化電位が -70 mV ないし 110 mV (炭素ベース電極を用いた標準カロメル電極に対しサイクリック電圧電流法により測定)となるように選ばれる)で表わされるトリアリールイミダゾールのいずれかから成る。

酸化の際、トリアリールイミダゾールは染料即ち次のような、イミダゾール基と共役したオキソ基を有するシクロヘキサジエニリジノンイミダゾールを生成する。



この明細書で用いるアリールという表現にはフェニル、ナフチル等のような芳香族炭化水素基及び置換芳香族基が含まれる。この明細書におけるアリール基中の炭素原子の数とは、置換基を含む芳香族基の炭素数の総数をいう。この明細書でアルキルとは、好ましくは、基の学名を確立する為に用いる脂肪族鎖中に炭素数1ないし約20（好ましくは1～10）の置換アルキル基を含むアルキル基を言う。式(I)の化合物に結合した基R、R'及びR''上の有用な置換基には、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ等のような電子吸引基が含まれる。式(I)の化合物の有用な塩形成性アニオン[ⓐ]には、p-トルエンスルホネート、アルキルスルフェート、硫酸塩、塩化物、臭化物、沃化物等のアニオンがある。

かくして本発明によりまた過酸化水素及び反応して過酸化水素を生成する物質並びにパーオキシダーゼのような過酸化作用を有する物質を測定することができる。即ち、過酸化作用を有する物質の存在下で過酸化水素により染料形成性物質を酸

る。この組成物は、緩衝液、過酸化作用のある物質、前記式(I)又は(II)で示したような染料形成性物質及び被検体反応を行って過酸化水素を生成するに必要なその他の成分から成る。

本発明の分析要素の製造にあたっては、過酸化水素又は反応して過酸化水素を生成する物質及び前記式(I)又は(II)で示したような染料形成性物質から成る、たとえばヘモグロビンのような過酸化作用を有する物質の測定用組成物を使用することもできる。この新規な組成物は、適切な溶媒を含む溶液状でそして必要な場合には界面活性剤のような慣用のアジュバントを含む溶液状で製造可能であることも理解されたい。また、戸紙のような適切な吸収剤物質に鑑別用試薬成分を含む溶液を含浸させることによっても組成物を製造可能である。ついでながら鑑別用試薬の溶液を用いる場合は、試験紙を、界面活性剤のような慣用のアジュバントを含む溶液から製造することが有利であることが多い。

更に水と混和可能でありそして、前記式(I)及び

化し着色染料を生成せしめる。生成する着色染料の濃度を慣用方法により測定して、分析すべき標本に存在する過酸化作用を有する物質又は過酸化水素の量を示すことができる。このような方法において前記式(I)又は(II)に記載したような染料形成性物質により着色染料が提供される。

分光光度計を用いた光学的測定又は標準カラースケール、標準対照溶液又は標準カラーチャートと染料濃度との比較等のような方法により染料濃度の測定を行うことができる。

本発明による過酸化水素存在の測定は併用（即ち組み合せ連続工程）及び独立（即ち直接的単一工程）酵素反応に特に有用である。この方法は、併用酵素反応の場合にはグルコース、ガラクトース、アミノ酸、コレステロール及び尿酸の測定にそして独立酵素反応の場合には過酸化物質、ヘモグロビン、パーオキシダーゼ又はその他の過酸化作用のある物質に有用である。

本発明のその他の特徴に従って、反応して過酸化水素を生ずる物質の測定用の組成物が提供され

(III)で示す染料形成性物質及び反応して過酸化水素を生成する物質か又は界面活性剤のような必要若しくは所望なアジュバントと共働して過酸化作用を示す物質のいずれかから成る乾燥混合物も本発明の範囲内である。

本発明の緩衝組成物によって生じる染料は非常に高い吸光率を有しそしてそれ故比較的低い染料濃度でも比較的高い光学的濃度を示す。かくして、相対的に非常に低い濃度の過酸化水素、過酸化作用を有する物質又は分析の際過酸化水素を生成する被検体検出用の手段が提供される。Przybylowicz及びMillikanの前記引用の米国特許に記載のごとくそのような分析を多層要素を用いて行う時、試薬媒質の厚さを増大させる必要がなくまたその他の改変を行う必要がないので前記の事実は特に有用である。

最後に、本発明の要素は、更に、前記式(I)及び(II)に記載の染料形成性物質の測定に使用可能であり、過酸化水素又は反応して過酸化水素を生成する物質及び過酸化作用を有する物質から成る組成

物の測定に使用することができることもつけ加えておく。本発明はかかるタイプの鑑別用材料製造の際対照目的に有用であることもある。

過酸化水素検出用組成物は業界周知である。特にこの組成物は、グルコース、尿酸、コレステロール及びその他の酵素基質の酵素的検出用として周知である。このような組成物は一般に、過酸化作用を有する物質、好ましくはパーオキシダーゼ、並びに過酸化水素及び過酸化作用を有する物質の存在下で色素を生成するか又は変化を受ける染料形成性物質から成る。染料形成性物質はたとえばロイコ染料のような直接的に色変化をおこす物質であってもよくまたこの物質は、過酸化水素及び過酸化作用を有する物質の存在下で酸化の際直接的には実質的に色変化をおこさないが酸化型で発色剤と反応して好ましくは化学量に基づく、検出可能な生成物を与える物質であってもよい。色発色反応により着色染料を生成する染料形成性物質であって着色染料を直接的に生成するこれら染料形成性物質はこの明細書に記載の型の物質である。

質を用いたルーチンの実験室操作により、目的とする特定分析に適合する高い吸光度を有する染料を生成する組成物を選ぶことができる。

パーオキシダーゼは過酸化水素が別の物質を酸化する際反応を触媒する酵素である。パーオキシダーゼは一般に鉄ポルフィリンを含有する複合蛋白である。パーオキシダーゼは西洋わさび、じゃがいも、いちじくの樹液、かぶら（植物パーオキシダーゼ）、牛乳（ラクトパーオキシダーゼ）及び白血球（ペルドパーオキシダーゼ）中に存在しまた微生物中にも存在しそして発酵により製造することができる。

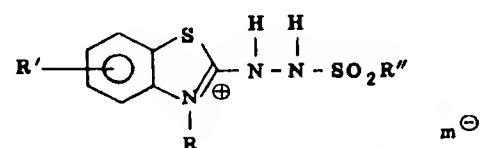
「Acta chem. Scand第4巻、第422～434頁、1950年、Theorell及びMaehly著」に開示されているようなある合成パーオキシダーゼもH₂O₂検出系に用いるに十分である。ヘミン、メトヘモグロビン、オキシヘモグロビン、ヘモグロビン、ヘモクロモゲン、アルカリ性ヘマチン、ヘミン誘導体及びその他の、過酸化作用又はパーオキシダーゼのごとき作用を示す化合物のような物質

下記の例1に示す結果から分るように、前記構造式により示される必ずしもすべての染料形成性物質が、過酸化水素、過酸化作用を有する物質及び緩衝液の存在下で着色染料を生成するわけではない。従って例1に示すようなスクリーニングを行ってこの明細書に記載の型の指示組成物の性能を測定することが重要である。このスクリーニングは次のようにして行う。即ち小量の、分析下の染料形成性物質（水溶解性が問題となる場合にはメタノールのような水混和性溶媒中で分析を行う）と過酸化作用を有する物質及び緩衝液とを混合することにより行う。次いで少量の過酸化水素を添加し着色染料が生成するかないかを観察する。着色が見られないならばこのネガティブな結果はある特別な緩衝液中の染料形成性物質のレドックス電位に帰因するものであるか又は単に染料形成性物質の酸化電位が、過酸化作用を有する特定物質及び過酸化水素の存在下で酸化がおこるには余りも高すぎることと帰因する。かくして種々な染料形成性物質、緩衝液及び過酸化作用を有する物

はかようなパーオキシダーゼに劣る。

酵素ではないが過酸化作用を示すその他の物質には、チオシアン酸鉄、スズ酸鉄、フェロシアン酸第一鉄、シリカゲルに吸着させた第二クロム塩（たとえば硫酸クロムカリウム）等がある。」

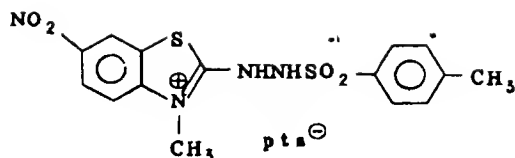
好ましいスルホニルヒドラゾン前駆体は次式の塩



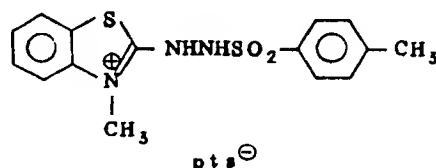
（式中R、R'、R''及びm⁻は前記定義の通り）から成る。使用の際このような化合物は先ず脱プロトン化されてヒドラゾンとなり次いで発色剤混合物中の発色剤とカップリングする。

これらの塩の中で特に好ましい塩はmがp-トルエンスルホン酸である場合である。

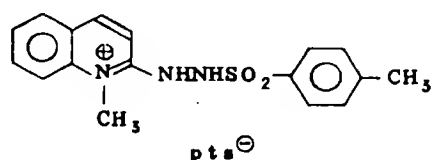
好ましいそのようなヒドラゾン前駆体化合物の構造式は次の通りである。



3-メチル-6-ニトロ-2-(2-p-トルエンスルホニルヒドラジノ)ベンゾチアゾリウム p-トルエンスルホネート



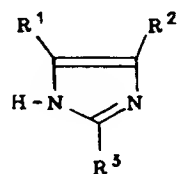
3-メチル-2-(2-p-トルエンスルホニルヒドラジノ)ベンゾチアゾリウム p-トルエンスルホネート



1-メチル-2-(2-p-トルエンスルホニル

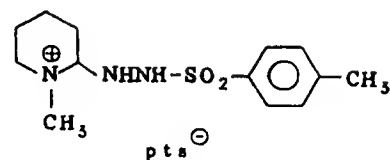
ンスルホン酸, 2, 6-ジメチルフェノール, フェノール, ジフェニルアミン, 4-クロロ-2-ニトロフェノール, p-ヒドロキシフェニル酢酸, 4-クロロ-3-メチルフェノール, 2, 4-ジクロロ-1-ナフトール及び4-クロロ-2, 6-ジニトロフェノールがある。

好ましいトリアリールイミダゾール染料形成性物質は式



(式中 R^1 , R^2 及び R^3 はそれぞれ有機の基であって、 R^1 , R^2 及び R^3 の少くとも一つが炭素数 18 以下のオルト又はパラヒドロキシ置換アリール基でありそして他の R^1 , R^2 及び R^3 の少くとも一つがアルキルオキシ基 ($-OR^7$) 又はジアルキルアミノ ($(R^7)_2N$ (式中 R^7 は炭素数 1 ないし約 8 のアルキル基である)) のようなオルト又はパラ電子供与置換基である) で表わされる。

ヒドラジノ)キノリニウム p-トルエンスルホネート



1-メチル-2-(2-p-トルエンスルホニルヒドラジノ)ピリジニウム p-トルエンスルホネート

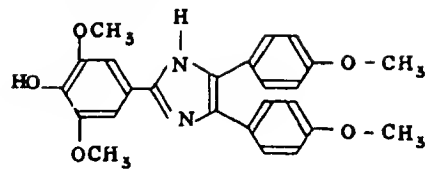
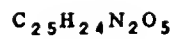
当業者にとって周知のことであるが前述のように、必ずしもすべての前記のような染料形成性物質がすべての緩衝液の存在下ですべての発色剤とカップリングするわけではないので、染料形成性物質と発色剤とを適切に合せることが必要であることは当然である。従ってスクリーリングを行うことは有用である。

有用な発色剤にはフェノール, ナフトール, 芳香族アミン又は反応性メチレン発色剤がある。特にそのような発色剤には、1-ナフトール, 2-ナフトール, 5-ジメチルアミノ-1-ナフタレ

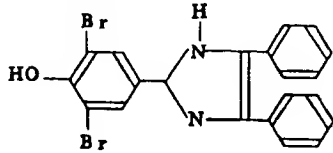
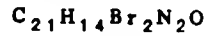
有用なトリアリールイミダゾール染料前駆体の製造及び反応性は米国特許第 3 297 710 号 1967 年 1 月 10 日公告に開示されている。

イミダゾールの R^1 , R^2 及び R^3 基上の有用な置換基にはハロゲン, ヒドロキシル, シアノ, ハロアルキル, シアノアルキル, ヒドロキシアルキル, アミノアルキル, アリール, アロキシル, アラルコキシ, アルキルチオ, アリールチオ, アラルキルチオ, アルカノイル, アロイル, アルキル, スルホニル, アリールスルホニル, ジアルキルアミノ, トリアルキルアンモニウム, アルコキシカルボニル, アリールオキシカルボニル及びジアルキルアミノカルボニルがある。好ましくはアルキルは炭素数 1 ないし 5 の基を表わしそしてアリールはフェニルのような芳香族炭化水素基を表わす。これらの置換基のそれぞれは本発明の前述の発色団単位と電子的に親和性である。

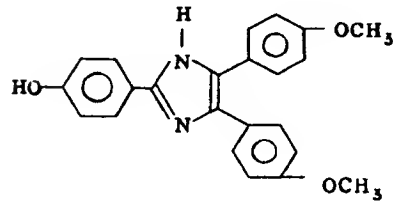
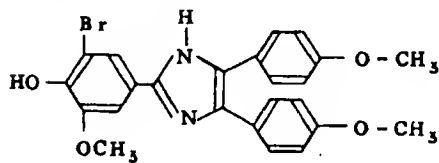
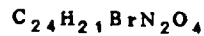
この明細書に記載の組成物に有用なトリアリールイミダゾール染料形成性物質のリストは次の通りである。



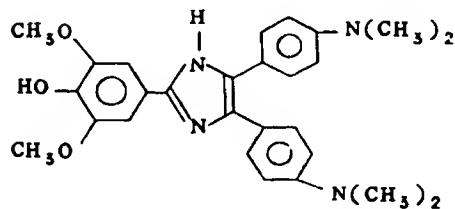
2-(4-ヒドロキシ-3,5-ジメトキシフェニル)-4,5-ビス(4-メトキシフェニル)イミダゾール



2-(3,5-ジブロモ-4-ヒドロキシフェニル)-4,5-ジフェニルイミダゾール



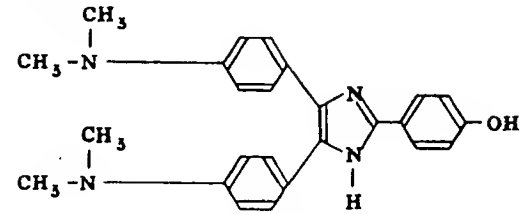
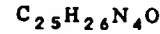
2-(4-ヒドロキシフェニル)-4,5-ビス(4-メトキシフェニル)イミダゾール



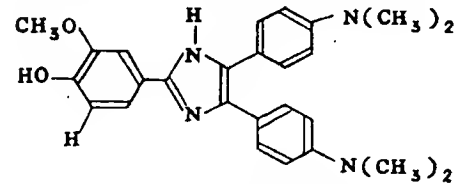
4,5-ビス(4-ジメチルアミノフェニル)-2-(4-ヒドロキシ-3,5-ジメトキシフェニル)イミダゾール

以下余白

2-(3-プロモ-5-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-4,5-ビス(4-メトキシフェニル)イミダゾール



4,5-ビス(4-ジメチルアミノフェニル)-2-(4-ヒドロキシフェニル)イミダゾール



4,5-ビス(4-ジメチルアミノフェニル)-2-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)イミダゾール

前述で明確にした構造の範囲に入るその代表的なイミダゾールは前記米国特許第3297710号に開示されている。

どの緩衝液もこの明細書に記載の組成物に用いるに大体適する。当然のことながら反応媒質のpHは有用な緩衝液により、染料形成性反応を阻害しないでその助けとなる値となる。前述しそして以下の例1に示すスクリーニングは特定の過酸化作用を有する物質及び染料形成性物質に関する特定の緩衝液の有用性を測定するに有効である。有効な緩衝液には、炭酸ナトリウム及び炭酸カリウムのような炭酸塩緩衝液、硼酸ナトリウム及び硼酸カリウムのような硼酸塩緩衝液、クエン酸塩緩衝液、リン酸塩緩衝液、グルタル酸塩緩衝液及びトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンのようなトリス緩衝液であることを見出した。これらの緩衝液は約5.0ないし10.0の間の範囲内のpHに試薬組成物を緩衝する。グルコースオキシダーゼを用いて過酸化水素を生成させることから成るグルコース分析に有用であるような連続的併用酵

系反応で、この明細書に記載の特定の染料形成性物質を用いてたとえば血清成分を検出するのにこれら約5.0ないし10.0の範囲内のpHは有用である。ウリカーゼを用いて尿酸を検出する場合には、約8と約9の間のpHに組成物を緩衝するのが好ましい。

上述の組成物は吸収性戸紙型試験材料又はE.P. Przybylowicz及びA.G. Millikanの米国特許第3992158号記載の型の更に複雑で非常に好ましい多層分析要素に組み入れることができる。

この型の要素は

- (1) 拡散層
- (2) 使用の条件下で拡散層と流体接触する試薬層、及び
- (3) 場合によっては支持体

から成る。

この型の要素には非繊維性拡散層を用いるのが好ましい。

この型の多層分析要素は個々の分析又は連続的分析機を用いた多数の分析を行うのに応用される。

る。

拡散層：

この明細書で用いる「拡散層」という言葉は液体試料を受容しうる等方的に多孔性の層か又は別の構造で液体試料を受容しうる層を意味する。液体試料は、拡散層へ直接か又は拡散層と流体接触している層（単数又は複数）を通してそれへ適用するかのいずれかの方法で適用する。拡散層内では試料及び少くとも一つの溶解又は分解成分の溶解又は分散媒質が分布し、要素の試薬層に面する拡散層の表面で前記のような成分は均一濃度となる。そのような濃度の均一性は以下に記載するような技法で測定する。以後そのような“均一濃度”を“見掛上の均一濃度”と呼ぶこともある。拡散成分には被検体も含まれる。厚みにより存在する濃度勾配又は別のファクターで拡散層内に存在する濃度勾配に関してそのような均一濃度とすることが可能であることももちろんのことである。定量的試験結果を得るのにそのような勾配が存在にいてもいかなる困難も呈さない、これは公知の対

これらの要素を連続ストリップ、シートの形状でか又はバラバラのチップとして用いることができる。

この明細書で用いる「流体接触」という言葉の意味は米国特許第3992158号記載の通りである。

流体が通る為に連続又は有効に連続している層を有する要素を製造することにより層間の流体接触をさせることができる。別法としては最初接触しておらずそして更に離れて位置させることが可能な層を有する要素を製造することが適切であることもある。このように層を離れて位置させるにはたとえば米国特許第3511608号に記載されているような差し込み物を用いるか又は米国特許第3917453号及び米国特許第3993594号に記載されているような弾力のある吸着性材料又は変形性支持体を用いる。もちろんのことであるが要素が最初非接触層を有する場合は、それを用いて分析を行う時に圧力を適用するか又は他の方法でその層を流体接触させることが必要であ

照方法を用いて調節することが出来る。

拡散層を等方的に多孔性の層とすることが出来る。この明細書で用いる「等方的に多孔性」という言葉により、拡散層内のすべての方向に実質的に多孔性であることが意味される。そのような多孔性の呈度を必要であるか又は所望ならばたとえば孔サイズ、気孔率又は他の指標に関して可変であることが理解されよう。等方的多孔性に関する付加の記載は米国特許第3992158号を参照されたい。

言うまでもなく拡散の度合は拡散すべき液体の容積に幾分依存している。しかしながら、拡散により得られる見掛上の均一な濃度は実質的に液体試料容積とは無関係でありかつ拡散の度合とはかわりないことを強調しておく。従って本発明の要素には一般に正確な試料適用技法は必要でない。しかしながら特別な供試液容積を用いることは、好ましい拡散時間等の理由により望ましいことがある。これらの要素により、拡散層の都合のよい大きさの領域（たとえば1cm²の領域）内に完全

に採取されうる非常に小容積の試料を用いて定量的な結果を得ることができるので、液体試料適用の後過剰の水分を要素から除く必要はない。更に、拡散層内で拡散がおこりそして拡散物質は明らかな実質的な横方向静圧を受けることなく流体接触している試薬層へ提供されるので、可溶性試薬を用いた時先行技術の分析要素を用いてしばしば見られた環状化(ringing)の問題は生じない。

拡散層は拡散層が使用の際流体接触する試薬層に面する単位表面積あたりに拡散成分に関して見掛上の均一濃度を生成すればよい。ある特別な層が拡散に適しえるかどうか測定する簡便な方法は米国特許第3992158号を参照されたい。

等方的に多孔性の層を種々な成分を用いて製造することが出来る。ある態様では粒状物質を用いてそのような層を製造することが出来る。そのような層は粒子間の相互連絡空間によって等方的に多孔性になる。等方的に多孔性重合体組成物を製造するに有用なその他の方法には、米国特許第2960728号及び同第2946095号に記

ジオメトリー法による分析結果の検出を妨害しない程度の繊維状成分しか前記のような層又は物質に含まれないことが意味される。

試薬層：

本発明の要素中の試薬層は、拡散層内に拡散可能な成分へ浸透性、好ましくは均一に浸透可能でありそしてそれが適切な時、場合によっては多孔性である。本明細書で用いるように「浸透性」という言葉には、多孔性、膨潤性又はその他の特性から生じる浸透性という意味が含まれる。被検体と相互作用のある物質が分布（即ち溶解又は分散）しているマトリックスを一般にそのような層に含めることが出来る。

相互作用のある物質（即ち試薬）をマトリックス物質内に溶解又は分散させることにより分布させることが出来る。均一分布が望ましい場合が多いが、相互作用のある物質がたとえばウリカーゼのような酵素である場合は均一に分布させる必要はない。

試薬層は拡散層へ均一に浸透可能であることが

載されているような多孔を生成する為のガス若しくはその他の膨潤可能な構成成分の使用又は米国特許第3816575号に記載されているような溶解して孔を生成する溶解性固体の重合相での使用に関する方法がある。

ブラッシュポリマー(blush 又は blushed polymer)層は特に望ましい。本発明の実施に使用可能な等方的に多孔性の層を製造するに有用なブラッシュポリマー及び粒状物質に関する更に詳しい記載に関しては米国特許第3992158号を参照されたい。

広範囲の物質が拡散層として有用である。しかしながら通常分析下の液体に耐性のある、即ちそれらと接触した際実質的に非膨潤性である物質が望ましい。層の乾燥厚の約10～40%の膨潤が標準的である。層及び／又は物質に関してこの明細書で用いる「非繊維性」という言葉により、そのような層又は物質が繊維状物質を含まないか実質的に含まないことを意味する。即ちこの明細書で記載するような試料拡散を妨害しないか又はラ

望ましい。均一流体を層の表面へ均一に提供する時、同一装置及び同一条件を用いての層表面の種々な領域におけるそのような流体濃度の測定結果が実質的に等しく（即ち等しくしうる）なるような浸透性が「層の均一浸透性」という言葉により意味される。均一浸透性により、たとえばこの明細書で記載のような不望の濃度勾配が回避できる。

以下余白

本発明の要素はレジストレーション層（即ち拡散層及び試薬層の下にある層）を含んでいてもよく、それは相互作用のある物質を含んでいてはならず、そして被覆層中で生成する染料を受容する働きのみをしうる。そのような層は一般に染料浸透性マトリックスを含みそして所望により媒染剤、界面活性剤のようなその他のアジュバントを含む。分析要素における層及びそれらの配置を強化するこれらの添加剤についてはペルギー国特許 831,660号，1976年1月23日公告の液体分析用一体型要素（P. クレメント著）に更に詳しく記載されている。

この明細書に記載のレジストレーション層又は試薬用のマトリックス材料の選択は当然可変であり、そしてそれは要素の目的とする使用方法並びに、以下に記載するように要素に組み入れる特別な相互作用のある物質に依存する。望ましいマトリックス材料には天然及び合成物質の双方を含む親水性物質が含まれうる。セルロースエステル等のような親油性物質も有用でありうる。ある場合

よいが当然検出様式に依存して光又はその他のエネルギーを透過可能である。用いる支持体はいずれの場合も目的とする検出様式と相反さない。好ましい支持体には約200 nmと約900 nmの間の範囲内の波長の電磁放射線を透過しうる透明な支持体物質がある。一つ又はそれ以上の狭い波長の範囲に亘って光透過性でありそして近傍の波長において光透過性でない支持体を有することも望ましいであろう。たとえば適切な吸収特性を有する一つ以上の着色剤を支持体に含浸させるか又はそれで支持体を被覆することにより前記のような支持体を得ることができる。要素に支持体を含める時、試薬層を支持体と拡散層との間にさしはさむ。特に好ましい本発明要素の透過範囲は、前述の種々な好ましい指示薬組成物に関する記載から明らかであろう。支持体の厚さは、たとえば検出放射線の強度及び検出装置の感度のような種々なファクターに依存して非常に広範囲に可変であるけれども支持体の厚さは約0.025ないし約0.25 mmの間であるのが好ましい。

には物質の選択は特定要素の使用パラメーターとなる。試薬層の浸透性を強化する為に多孔性でない場合には、分析下の液体の分散媒質又は溶媒中で緩徐に膨潤しうるマトリックス材料を使用することが有用である場合が多い。

浸透性に加えて試薬層には、一体型要素において得られる分析結果検出の際はん点又はその他のノイズとしてあらわれるか又はそれらの原因となる性質が実質的にないことが望ましい。本発明の要素に有用な試薬層に関して更に詳しくは米国特許第3,992,158号を参照されたい。

支持体：一体型分析要素を自己支持性とするものが出来るか又は拡散層、試薬層及び任意のその他の共働層を支持体上に被覆することが出来る。このように用いる有用な支持体材料には、紙、ポリオレフィン被覆紙並びに種々な重合体状物質がある。かような重合体状物質にはたとえば酢酸セルロース、ポリ（エチレン，テフタレート）、ポリカーボネート及びポリスチレンのようなポリビニル化合物がある。支持体は不透明であっても

その他の層 分析要素をスペクトロフォトメトリ分析の反射技法による分析系に用いるに適合させるのが好しい。従ってこの分析要素には一般に反射層としての機能を果たす層が含まれる。この層によって、比色又は他の指示反応による要素の支持体側を通したスペクトロフォトメトリ測定用の適切な背景が提供される。反射層は、アナライトが試薬層又はレジストレーション層へ通過できるようにしておりそしてそれによりリフラクシブスペクトロフォトメトリ用の有効な背景が提供されねばならない。白色背景は一般にこの目的に好ましい。試薬層又はレジストレーション層中で構成される指示薬用の背景としての機能の観点から反射層を通常拡散層及び試薬層又はレジストレーション層の間におく。しかしながら試薬層とレジストレーション層との間にあるのが適切な場合には反射層をそのように配置する。反射性はたとえば拡散層としても働く層によっても付与可能であるしまた、要素内でその他の機能を有さない付加の層によっても付与することができる。

二酸化チタン及び硫酸バリウムのような顔料は反射性でありそして反射層に有利に用いることができる。ブラッシュポリマーも適切な反射物質を構成することができる。もちろんのことであるが顔料拡散層も、拡散層でもありえるブラッシュポリマー層がこの目的に有用であると同様にこの目的に有用でありえる。ある好ましい態様では、ブラッシュポリマー層に顔料をも組み込み、拡散及び／又は反射を強化することができる。ブラッシュポリマーと共に層に含まれる顔料の量は非常に可変であり、そしてブラッシュポリマー1重量部に対し約1ないし約10重量部の顔料が好ましくブラッシュポリマー1重量部に対し約3ないし約6部が最も好ましい。

濾過層を要素に存在させてもよい。そのような層の組成及び製造は業界周知である。濾過層が存在する場合それらは、指示反応を妨害又は別のやり方で定量を妨害する成分を試料から除去する働きをする。従って、全血液中の尿酸の分析に多層分析要素を使用する際、濾過層によって赤血球細

ソプロピルアクリルアミド)、コポリ(酢酸ビニル/ビニルネオデカノエート)(酢酸ビニル20重量%)及びコポリ(ビニルネオデカノエート/n-ビニル-2-ピロリドン)(ビニルネオデカノエート10ないし30重量%)のような重合体状フィルム形成性物質がある。

中間層は浸透性を保持せねばならないのでこれらの層は必然的に非常に薄くそして一般に厚さは0.025 μ mのオーダーの単層ないし各層から成る。前記物質から成る重合体状中間層を用いる時、重合体の密度、下塗り層の浸透性等のような性質に依存してそれらを一般に約90 μ mないし約1000 μ mの範囲の量で適用する。

たとえば電子衝撃等のような層間の粘着性を改善する表面処理も望ましい場合がある。

要素製造 一体型分析要素製造の際、層を単独層として予備形成し、その後積層するか又は要素使用時に流体接触させるまで単独層として保持する。単独部材として製造した層はその表面上を典型的には溶液又は分散液で被覆しそして乾燥時に

胞が取り去られ、血清は下層へ輸送される。血清又は他の流体を分析する際、濾過層は、最初の指示反応を妨害又は混乱させうる不望の成分を除去する働きをすることができる。他に前記ブラッシュポリマー層も濾過層として機能を果たしうる。この要素を全血液の分析に用いる場合、濾過層の孔サイズは0.5ないし5ミクロンであるのが望ましい。

重ね合わせる拡散層、濾過層及び反射層への試薬層の粘着を増強する為に、下塗り層として働いてそのような層間の粘着性を改善する浸透性分離層又は中間層を適用することが有用である場合があることを見出した。中間層が、被検体が試薬層に達しうる程に十分浸透性であり、隣接層の試薬を妨害せずそして望ましく改善された粘着性を提供する限り、中間層をほとんど任意の物質から製造してよい。そのような物質は当業者に周知である。

特に有用な結果を与えた中間層物質には、ポリ(n-ビニル-2-ピロリドン)、ポリ(n-イ

それを物理的にはがすことができる。しかしながら連続層が所望な場合何回もののはがし及び積層工程の必要性を回避しうる簡便方法は、裸表面又は支持体上に最初の層を被覆し、所望ならその後これら前もって形成した被覆上へ直接次の層を被覆することから成る。そのような被覆は異被覆装置を用いて手で行うか又は浸漬被覆若しくはビード被覆のような方法で機械により行うことができる。機械被覆技法を用いる場合、感光性写真フィルム及び紙の製造においてよく知られているホップ被覆技法を用いて隣接層を同時に被覆可能であることが多い。中間層粘着問題は、写真フィルムで用いられるような非常に薄い下塗り層を適用することから成る表面処理により、有害作用をもたらすことなく克服することができる。

ある試薬物質を拡散層へ組み入れてもよい。特にウリカーゼをこの層へ組み入れることにより、 H_2O_2 に作用して検出可能な変化を生じさせる物質を含む試薬層に試料が達する前に過酸化水素を生成させることが出来る。

拡散層が透過及び拡散の機能を果たす場合には、混合有機溶媒に溶解してこの明細書に記載したようなブラッシュポリマー層を提供する酢酸セルロースのようなバインダーの二層を同時に被覆することにより拡散層を好都合に製造する。そのような方法により、多数回に及ぶ多層の被覆を一回で行えるようになり一方非常に有用な拡散及び透過層が得られるようになる。場合によっては所望により個々の層双方ともか又は一方が TiO_2 のような反射性顔料を層中に分散含有していてもよい。

種々な個々の層を拡散層又は試薬層のいずれかに同時に被覆するに適する装置及び方法は米国特許第 2,932,855 号 (1960 年 4 月 19 日発行) に記載されている。

拡散層の厚さは可変でありそして目的とする試料容積に幾分依存し、この試料容積は簡便さ及び清潔さの理由から拡散層が吸収せねばならない量であり、更に拡散層の厚さは、層中に吸収される試料量にも影響しうる層の気孔率にも依存する。広範囲の厚さも許容可能でありそしてそれは特定

的な精度で計算することができる。前記固体物質は層の成分から構成されており比較可能である。

マトリックスを含みかつ相互作用のある物質が組み入れられている被覆溶液又は分散液をこの明細書に記載のごとく製造し、被覆しそして寸法が安定な層を試薬層として形成する。試薬層の厚さ及びその浸透性の度合は広範囲に可変でありそして実際の使用に依存する。約 10 ミクロンないし約 100 ミクロンの乾燥厚が有用であった。

更に要素に、それぞれが分析の際特別な機能を果たすいくつかの個々の試薬層を組み入れることができる。ある例様では尿酸測定を試薬系を二つのバラバラの層で被覆してもよい。これらの層のうち一番上の層に尿酸から過酸化水素を生成するに必要な試薬を含めることが出来そして二番目の層に色素又はその他の指示薬系を含めることが出来る。

尿酸分析用の要素ではウリカーゼが、適用量 50 ないし 500 U/ml 、好ましくは約 100 ないし 300 U/ml で拡散層又は試薬層のいずれか中へ

要素にとっては望ましいこともあるけれども約 50 ミクロンないし約 300 ミクロンの厚さの拡散層が特に有用であった。

等方的に多孔性の拡散層を製造する時、気孔率が総体積全体の少くとも約 25% であることが有用でありそして 50 - 95% が望ましい。多孔性拡散層の気孔率の多様性を有利に用いて、拡散層の浸透性又は試料が拡散するに必要な時間のような要素の特性を改変することができる。たとえば適切なサイズの粒状物質を選定することによってか又は拡散層に等方的に多孔性のブラッシュポリマーを用いる時溶媒若しくは乾燥条件を変化させることによって層内の気孔率を変化させることができることが理解されよう。そのような層の気孔率は、「ジャーナルオブザナショナルカンサーインスティテュート、チャークレイ (Chalkley) 著第 4 巻、第 47 頁、1943 年」に記載の統計的方法のような種々な方法及び層の実際の重量と層の体積と等しい体積の固体物質の重量とを直接秤量しかつそれらの割合を決定することにより通

組み入れられる。パーオキシダーゼを適用量約 1000 ないし 10000 U/ml 、好ましくは約 2000 ないし 8000 U/ml でそのような要素に用いることが出来る。

この明細書に記載の層を、たとえば米国特許第 3,992,158 号に記載のように溶液又は分散液から被覆することにより製造するのが好ましい。被覆の為に、層へ適切な被覆性質を付与する被覆助剤を含めることが必要である場合が多い。

被覆助剤をこの為又は以下に記載の目的の為に用いるいかなる場合も、それらによって種々な試薬層に存在するウリカーゼ又はその他の試薬の活性が阻害されないことが重要である。この為に特に有用な被覆助剤には、商品名トライトン (X-100, 102, 165, 305 及び 405 が特に好ましい) でロームアンドハース社により販売されているオクテルフェノキシポリエトキシエタノール、商品名界面活性剤 10G でオレインマチエソン社により販売されている (P-ノニルフェノキシ) グリセリン並びにユニオンカーバイドに

より販売されているカーボワックスポリエチレングリコール600, 1540, 4000, 6000及び20M(カーボワックス1540のオレイルエーテルが特に有用である)のような非イオン性界面活性剤がある。その他の有用な被覆助剤にはグリセリン及びデュポンにより販売されているアルカノールXC(トリイソプロピルナフタリンスルホネート、ナトリウム塩)がある。

試薬層中において約0.5ないし約4.0 g/m²そして拡散層中において約1.0ないし約5.0 g/m²のオーダーの界面活性剤の量が一般にほとんど又は全然阻害作用を起こさず、改善された被覆及び試料拡散性を与えることが見いだされた。

層製造の際硬化剤を用いることにより、媒質の適切で素早い硬化を確実に行うことができ、取り扱いの際の損傷を防ぐことができそして隣接層との不望の混合を防止することができる。これらの使用は業界周知であって十分実証されておりそれ故ここではこれ以上言及しない。有機又は無機の硬化剤をこの為に用いる時はいつでもそれらが、

溶液中の少量のH₂O₂を検出する為の、この明細書に記載の組成物及び過酸化水素検出用指示薬の有用性を示す為に、炭酸塩緩衝液、硼酸塩緩衝液又はトリス緩衝液でpH 8.5ないし9.5に緩衝した溶液を製造することにより多数の化合物をスクリーニングした。試験管内でメチルアルコールに少量の炭酸指示薬組成物を溶かし、緩衝水溶液を添加しそして少量の過酸化水素を添加することによりそのような溶液を製造した。少量の過酸化物を次いで添加しそして発色をしらべた。ヒドラゾン化合物と共に用いる発色剤は次の通りである。

- (1) 2-ナフトール
- (2) 5-ジメチルアミノ-1-ナフタリンスルホン酸
- (3) 2-6-ジメチルフェノール
- (4) フェノール
- (5) ジフェニルアミン

この試験結果を表1に掲げた。

表1で用いるポジティブという言葉は検出可能な量の染料が生成したことを示し、“ネガティブ”

層に存在するその他の試薬に過度に悪影響を与えないことが重要である。この為に特に有用であることが見いだされた硬化剤には、グルタルアルデヒド及びビス(ビニルスルホニルメチル)エーテルがある。

受薬の使用: かくして以下に示す尿酸測定例により示すごとく使用の際、約5ないし約50 μ lのオーダーの滴サイズの試料を、公知の滴適用技法を用いて拡散層又はその他の一番外側の層へ適用する。拡散層通過の際試料滴は拡散しその結果採取量の試料が下部の試薬層へ導びかれる。試薬層では尿酸の分解がおこり過酸化水素が生成する。

別法としては用いる懸液に依存して過酸化水素の生成が拡散層又は上部試薬層中でおこりそして採取量の過酸化水素が下部試薬層へ導びかれる。いずれの場合も過酸化水素をある指示薬系及び公知の技法を用いて試薬層において定量しそして適用試料中に存在する全尿酸濃度を測定する。

以下の例により本発明を更に詳細に説明する。

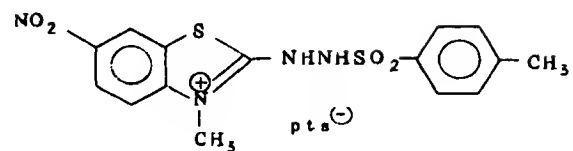
例 1

という言葉は検出不可能な量の染料しか生成しなかったことを意味する。

以下余白

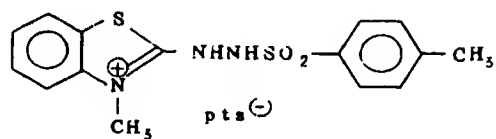
表 I

I. 染料形成性物質の構造



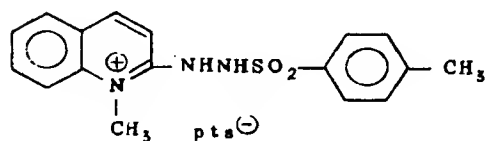
- | 発色剤 | 反応色 |
|-----|-----------|
| (1) | ネガティブ |
| (2) | ネガティブ |
| (3) | ポジティブ-暗褐色 |
| (4) | ポジティブ-赤褐色 |
| (5) | ネガティブ |

緩衝液系
炭酸塩, 硼酸塩, トリス
同上



- | | |
|-----|------------|
| (1) | ネガティブ |
| (2) | ネガティブ |
| (3) | ポジティブ-赤色 |
| (4) | ポジティブ-橙-赤色 |
| (5) | ネガティブ |

トリス
炭酸塩, トリス



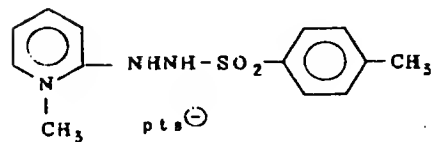
- | | |
|-----|------------|
| (1) | ネガティブ |
| (2) | ネガティブ |
| (3) | ポジティブ-橙色 |
| (4) | ポジティブ-橙-褐色 |
| (5) | ネガティブ |

炭酸塩, 硼酸塩, トリス
同上

以下余白

表 I (続き)

I.



- | 発色剤 | 反応発色 |
|-----|----------|
| (1) | ポジティブ-紫色 |
| (2) | ポジティブ-桃色 |
| (3) | ネガティブ |
| (4) | ネガティブ |
| (5) | ネガティブ |

緩衝液系

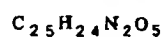
炭酸塩, 硼酸塩, トリス
炭酸塩, トリス

表 1 (続 き)

II. 染料形成性物質の構造

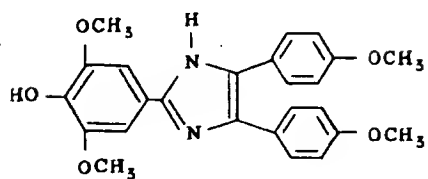
反 応 色

緩 衝 液 系



ポジティブ - 赤色

明酸塩, トリス



ポジティブ - 橙色

明酸塩, トリス

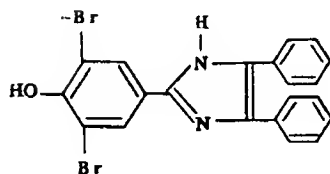
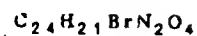


表 1 (続 き)

II. 構 造

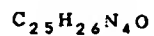
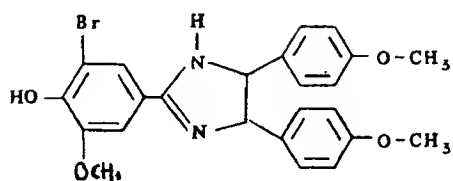
反 応 発 色

緩 衝 液 系



ポジティブ - 赤色

炭酸塩, トリス



ポジティブ - 緑青色

炭酸塩, 明酸塩, トリス

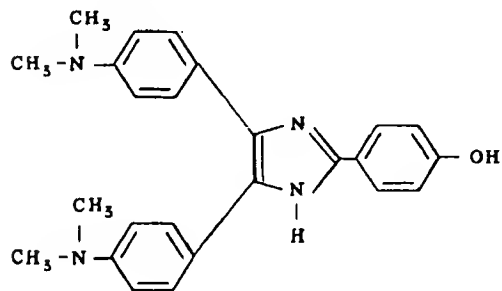
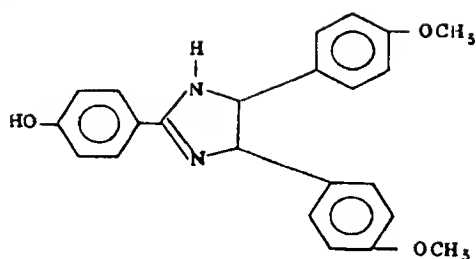


表 1 (続 き)

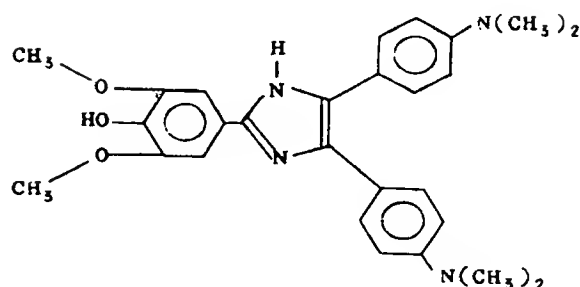
II. 構 造

反応発色

緩衝液系



ネガティブ



ポジティブ-橙-赤色

炭酸塩，崩壊塩，トリス

以下余白：

例 2

血清中の尿酸の定量分析に必要なすべての試薬を含む分析要素を次のようにして製造した。セラチンを下塗りした0.18mmのポリ(エチレンテレフタレート)フィルム支持体試料を、セラチン(10.8g/m²)、パーオキシダーゼ(2000U/m²)、2-(5-プロモーム-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-4,5-ビス(P-ジメチルアミノフェニル)イミダゾール(323μg/m²)、ビス(ビニルスルホンメチル)エーテル(72μg/m²)及びpH9.02にする量の炭酸塩緩衝液から成る試薬層で被覆した。この試薬層を次いでセラチン(5.4μg/m²)、ウリカーゼ(54U/m²)及びpH9.02にする量の炭酸塩緩衝液から成る層で被覆した。ポリ(n-イソプロピルアクリルアミド)(322μg/m²)から成る中間層を次いで要素へ適用し次いで二酸化チタン(56.5g/m²)及びブラッシュ作酸セルローズ(8.03g/m²)から成る等方的多孔性拡散層を適用した。

被覆要素を評価する為に濃度が2.0ないし20.0μg/dLの一連の尿酸スタンダードを製造しそして被覆にこれらの溶液10μLをスポットした。25℃で4分後680nmIF(干渉フィルター)を備えたスペクトロフォトメーターを用いて要素の反射濃度D_Rを測定し次の結果を得た。

尿酸溶液 (μg/dL)	D _R 680 nm 25℃で4分
0	0.07
2.0	0.28
5.0	0.49
10.0	0.63
20.0	0.74

例 3

血清中の尿酸の定量分析に必要なすべての試薬を含む分析要素を次のようにして製造した。セラチンを下塗りした0.18mmのポリ(エチレンテレフタレート)フィルム支持体試料を先ずセラチン(10.76g/m²)、パーオキシダーゼ(2152

U/m²), 5, 5 - ジメチル - 1, 3 - シクロヘキサジオン (108 g/m²), 染料前駆体 2 - (4 - ヒドロキシ - 3 - メトキシフェニル) - 4, 5 - ビス (P - ジメチルアミノフェニル) イミダゾール (322 g/m²) 及び pH 8.7 の弱酸塩緩衝液から成る試薬層で被覆した。この試薬層を次いでセラチン (5.15 g/m²), ウリカーゼ (54 U/m²) 及び pH 8.7 の弱酸塩緩衝液から成る第二の試薬層で被覆した。要素を次いで例 2 に記載の中間層及び拡散層で被覆した。

被覆要素を評価する為に濃度が 2.0 ないし 20 mg/dL の一連の尿酸スタンダードを製造しそして被覆にこれらの溶液 10 μL をスポットした。30℃で4分後 680 nm IF を備えたスペクトロフォトメーターを用いて要素の反射濃度 D_R を測定し次の結果を得た。

尿酸溶液 (mg/dL)	D _R 680 nm 30℃で4分
2.0	0.30
10.0	0.82
20.0	1.16

ポリ (n - イソプロピルアクリルアミド) (0.32 g/m²) から成る中間層を次いで要素へ適用した。次いで二酸化チタン (46.50 g/m²) 及びブラッシュされた酢酸セルロース (6.62 g/m²) 及びトライトン X - 100 (3.6 g/m²) から成る等方的多孔性拡散層を、有機溶媒にこれらの成分を溶かした混合溶液から成る層を乾燥することにより製造した。被覆要素を評価する為に濃度が 5.0 ないし 20.0 mg/dL の一連の尿酸スタンダードを製造しそして被覆にこれらの溶液 10 μL をスポットした。25℃で4分後 680 nm IF (干渉フィルター) を備えたスペクトロフォトメーターを用いて要素の反射濃度 D_R を測定し次の結果を得た。

尿酸溶液 (mg/dL)	D _R 680 nm 25℃で4分
5.0	0.69
10.0	1.03
20.0	1.46

これらの試験結果は、尿酸スタンダードに対する本発明の分析要素の応答を示すものである。

例 4

血清中の尿酸の定量分析に必要なすべての試薬を含む分析要素を次のようにして製造した。セラチンを下塗りした 0.18 mm のポリ (エチレンテレフタレート) フィルム支持体試料を、セラチン (10.8 g/m²), パーオキシダーゼ (6456 U/m²), ジエチルラウルアミド (5.40 g/m²) に 2 - (4 - ヒドロキシ - 3 - メトキシフェニル) - 4, 5 - ビス (P - ジメチルアミノフェニル) イミダゾール (0.54 g/m²) を分散させた分散液、並びに H₃BO₃ (0.11 g/m²), KCL (0.13 g/m²) 及び NaOH (pH を 8.8 に合わせる) から成る緩衝液から成る試薬層で被覆した。この試薬層を次いで H₃BO₃ (0.06 g/m²), KCL (0.07 g/m²) 及び NaOH (pH を 9.0 に合わせる) から成る緩衝液セラチン (5.38 g/m²) 並びにウリカーゼ (216 U/m²) から成る第二の試薬層で被覆した。

本発明をその好ましい態様を参照して詳細に説明したが改変を本発明の精神の範囲内で行いえることが理解されよう。

特許出願人

イーストマン コダック カンパニー

特許出願代理人

弁理士 青 木 胡
弁理士 西 館 和 之
弁理士 山 口 昭 之